

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局



(43) 国际公布日:
2004年2月12日(12.02.2004)

PCT

(10) 国际公布号:
WO 2004/013142 A1

(51) 国际分类号: C07D 475/14, A61K 31/525, A61P 1/02,
1/04, 9/10, 9/12, 17/02, 19/02

(21) 国际申请号: PCT/CN2003/000609

(22) 国际申请日: 2003年7月29日(29.07.2003)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权: 02125917.8 2002年8月2日(02.08.2002) CN

(71) 申请人(对除美国以外的所有指定国): 中国人民解放军军事医学科学院放射医学研究所 (THE INSTITUTE OF RADIATION MEDICINE, ACADEMY OF MILITARY MEDICAL SCIENCES, PEOPLE'S LIBERATION ARMY) [CN/CN]; 中国北京市海淀区太平路27号, Beijing 100850 (CN).

(72) 发明人; 及

(75) 发明人/申请人(仅对美国): 徐琪寿(XU, Qishou) [CN/CN]; 王林(WANG, Lin) [CN/CN]; 董朝阳(TONG, Chaoyang) [CN/CN]; 郭长江(GUO, Changjiang) [CN/CN]; 吕秋军(LU, QiuJun) [CN/CN]; 恽榴红(YUN, Lihong) [CN/CN]; 戴丽华(DAI, Lihua) [CN/CN]; 孙明堂(SUN, Mingtang) [CN/CN]; 中国北京市海淀区太平路27号, Beijing 100850 (CN).

(74) 代理人: 北京纪凯知识产权代理有限公司(JIEKAI & PARTNERS); 中国北京市西城区宣武门西大街甲129号金隅大厦602室, Beijing 100031 (CN).

(81) 指定国(国家): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NL, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(84) 指定国(地区): ARIPO专利(GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚专利(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧洲专利(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI专利(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

本国际公布:
— 包括国际检索报告。

所引用双字母代码和其它缩写符号, 请参看刊登在每期PCT公报期刊起始的“代码及缩写符号简要说明”。

(54) Title: A RIBOFLAVIN DERIVATIVE AND ITS MANUFACTURE AND USES

(54) 发明名称: 核黄素衍生物及其制备方法与应用

(57) Abstract: Disclosed is a riboflavin derivative and its manufacture and uses. Oil suspended preparations constituted of the derivative have good stabilities and the effect will maintain for 3 months after intramuscular 150mg once. The invention compound improves the bio-availability of riboflavin enormously and offers an effective therapy for familiar riboflavin deficiency. The invention also discloses the preparation could be applied for assistant treating dermatitis, mouth or enteron catarrh caused by bone marrow replanting in treating leucocythemia, chemotherapeutics or actinotherapy in treating tumour, and all kinds of obstinate mouth ulcerations. The invention can also be used for builduppng the patience for chemotherapeutics or actinotherapy, and also treating or assistant treating coronary, hyperiesia complication, arthritis and burns. This invention is of simple process, clear long-effect mechanism and assured effects.

[见续页]

BEST AVAILABLE COPY

WO 2004/013142 A1

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局



(43) 国际公布日:
2004年2月12日(12.02.2004)

PCT

(10) 国际公布号:
WO 2004/013142 A1

(51) 国际分类号: C07D 475/14, A61K 31/525, A61P 1/02, 1/04, 9/10, 9/12, 17/02, 19/02

(74) 代理人: 北京纪凯知识产权代理有限公司(JEEKAI & PARTNERS); 中国北京市西城区宣武门西大街甲129号金隅大厦602室, Beijing 100031 (CN)。

(21) 国际申请号: PCT/CN2003/000609

(22) 国际申请日: 2003年7月29日(29.07.2003)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
02125917.8 2002年8月2日(02.08.2002) CN

(71) 申请人(对除美国以外的所有指定国): 中国人民解放军军事医学科学院放射医学研究所 (THE INSTITUTE OF RADIATION MEDICINE, ACADEMY OF MILITARY MEDICAL SCIENCES, PEOPLE'S LIBERATION ARMY) [CN/CN]; 中国北京市海淀区太平路27号, Beijing 100850 (CN)。

(81) 指定国(国家): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(84) 指定国(地区): ARIPO专利(GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚专利(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧洲专利(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI专利(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

(72) 发明人;及

(75) 发明人/申请人(仅对美国): 徐琪寿(XU, Qishou) [CN/CN]; 王林(WANG, Lin) [CN/CN]; 童朝阳(TONG, Chaoyang) [CN/CN]; 郭长江(GUO, Changjiang) [CN/CN]; 吕秋军(LU, QiuJun) [CN/CN]; 恽榴红(YUN, Liuhong) [CN/CN]; 戴丽华(DAI, Lihua) [CN/CN]; 孙明堂(SUN, Mingtang) [CN/CN]; 中国北京市海淀区太平路27号, Beijing 100850 (CN)。

本国际公布:
— 包括国际检索报告。

所引用双字母代码和其它缩写符号, 请参考刊登在每期PCT公报期刊起始的“代码及缩写符号简要说明”。

(54) Title: A RIBOFLAVIN DERIVATIVE AND ITS MANUFACTURE AND USES

(54) 发明名称: 核黄素衍生物及其制备方法与应用

(57) Abstract: Disclosed is a riboflavin derivative and its manufacture and uses. Oil suspended preparations constituted of the derivative have good stabilities and the effect will maintain for 3 months after intramuscular 150mg once. The invention compound improves the bio-availability of riboflavin enormously and offers an effective therapy for familiar riboflavin deficiency. The invention also discloses the preparation could be applied for assistant treating dermatitis, mouth or enteron catarrh caused by bone marrow replanting in treating leucocythemia, chemotherapeutics or actinotherapy in treating tumour, and all kinds of obstinate mouth ulcerations. The invention can also be used for builduppng the patience for chemotherapeutics or actinotherapy, and also treating or assistant treating coronary, hyperiesia complication, arthritis and burns. This invention is of simple process, clear long-effect mechanism and assured effects.

BEST AVAILABLE COPY

[见续页]



WO 2004/013142 A1



(57) 摘要

本发明公开了核黄素衍生物及其制备方法与应用。用该化合物制成的油混悬制剂具有稳定性好，一次肌肉注射 150mg，作用时间长达 3 个月，大大提高了核黄素的生物利用度，为防治常见的核黄素缺乏病及提高核黄素治疗效果提供了一种重要的药物疗法。并发现该制剂对白血病行骨髓移植和抗肿瘤化疗、放疗中所引起的各种皮炎、口腔与消化道粘膜炎以及各种顽固性口腔溃疡有很好的辅助治疗效果，提高了临床病人化疗、放疗的耐受力，同时还具有核黄素治疗或辅助治疗治疗冠心病、高血压并发症、关节炎、烧伤等疾病的效果。本发明具有制备工艺简单、长效机制清楚、疗效确切，具有广阔的应用前景。

核黄素衍生物及其制备方法与应用

技术领域

本发明涉及核黄素衍生物及其制备方法与应用。

5 背景技术

- 核黄素是黄素酶辅基的组成部分，参与机体复杂的氧化过程，具有重要的药理学作用。近些年来药理学研究表明，除治疗传统的核黄素缺乏病外，核黄素还具有治疗冠心病、高血压并发症、烧伤等方面的药理作用。但核黄素是水溶性维生素，易从汗液及尿中排除体外，半衰期短，生物利用度低。
- 10 因此，当核黄素摄入不足或需要量增加时极易引起唇炎、口角炎、舌炎、阴囊皮炎等统称为口腔生殖器综合症，以及影响视力的结膜炎和球膜炎等各种核黄素缺乏症。长期以来，为防治各种原因引起的核黄素缺乏病，对核黄素衍生物进行了大量的研究，希望能找到一种合适的核黄素衍生物作为药物前体，在体内缓慢释放出核黄素原形，达到一次用药较长时间在体内贮留，发
- 15 挥药效的目的。日本学者 Kunio、宫本等用核黄素与脂肪酸酰氯或酸酐在吡啶中作用合成了核黄素四棕榈酸，四癸酸酯，四丁酸酯及四乙酸酯、色氨酸四酯，但这些酯在唾液及小肠液均不能水解，对四棕榈酸酯的进一步研究表明它没有核黄素的生物活性。

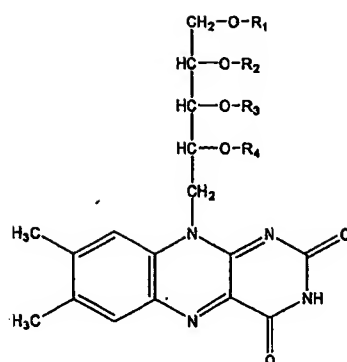
发明内容

- 20 本发明的目的是提供一种核黄素衍生物及其合成方法，该衍生物引入了长效基团，可以增加核黄素在体内贮留，使其能增加吸收、延缓排泄，提高生物利用度，达到长效的目的。

- 本发明所提供的核黄素衍生物，是除核黄素四硬脂酸酯、四棕榈酸酯、三月桂酸酯、四癸酸酯、四丁酸酸酯、四乙酸酸酯、色氨酸四酯、核黄素磷
- 25 酸酯外的所有核黄素或硫代核黄素侧链核糖醇羟基上的酯类衍生物。

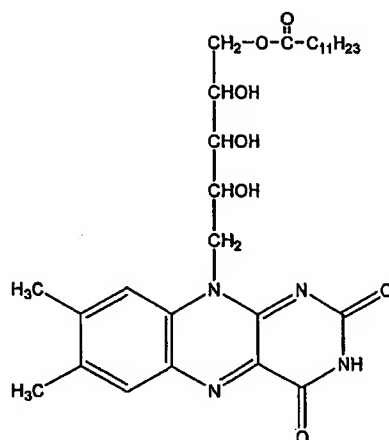
所述核黄素衍生物为式(I)所示的单酯、双酯、三酯或四酯化合物，其中 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 是不同、相同或独立存在的。

上述核黄素衍生物均可用常规方法制备。



式(I)

5 本发明的化合物中, 优选的是结构式(II)所示的核黄素-5'-月桂酸单酯。



式(II)

制备该核黄素-5'-月桂酸单酯的方法, 是向悬浮于极性有机溶剂中的核黄素或硫代核黄素中, 滴加月桂酰氯。

10 所述悬浮核黄素或硫代核黄素的极性有机溶剂优选的为吡啶或二甲基甲酰胺。

本发明的第二个目的是提供一种以本发明化合物为活性成分的核黄素长效制剂及其制备方法。

一种核黄素长效油混悬制剂, 基本上由式(II)化合物及油酸乙酯组成。

为了增加油混悬制剂的流动性, 所述油混悬制剂中还加有山茶油, 其各组分的重量(体积)比为:

	式(II)化合物	50—150 毫克
	油酸乙酯	0.1—1 毫升
5	山茶油	0—1 毫升

该油混悬制剂各组分的重量(体积)的优选比为:

	式(II)化合物	150 毫克
	山茶油	0.5 毫升
	油酸乙酯	0.5 毫升

10 本发明核黄素长效油混悬制剂在原料经过粉碎后, 采用常规的调和方法制备。

通过动物试验证明, 本发明核黄素衍生物具有明显防治核黄素缺乏症的效果, 克服了现有核黄素易从体液排出, 半衰期短, 生物利用度低的缺陷。

通过核黄素的构效关系及作用机制的研究, 发现本发明化合物中长效核
15 黄素-5'-月桂酸酯是产量最高, 效果最好的一个化合物, 经四大光谱分析(包括二维超导核磁分析)证明, 是一种结构清楚, 全新的核黄素衍生物。用该核黄素-5'-月桂酸酯制成的长效核黄素油混悬注射液制剂, 一次肌肉注射 150mg/ml, 药效长达三个月, 为防治常见的核黄素缺乏病提供了一种重要的药物疗法。

20 附图说明

图 1 为试验期间动物摄食量的变化

图 2 为试验期间动物体重的变化

图 3 为试验期间动物 BGRAC 变化

图 4 为试验期间动物血浆核黄素含量变化

25 具体实施方式

下面通过具体实施例来进一步介绍本发明内容, 但本发明不仅仅限于实施例的内容。

实施例 1: 核黄素-5'-月桂酸单酯的制备

30 取吡啶 1200ml, 蒸馏水 1200ml 和三乙胺 120ml 混合, 外用冰浴使内温保持 5—10℃, 加入核黄素 25.0g, 电磁搅拌至原料基本溶解。滴加月桂酰氯

和二氧六环 270ml 组成的混合溶液, 保持内温 10℃, 于 25min 滴完, 搅拌 20min。外用冰盐浴使内温降至 5℃, 滴加预先配制的浓硫酸 400ml 和蒸馏水 600ml 组成的溶液, 控制内温 10-15℃, 于 45min 滴完。再将内容物至冰水中 2.5h, 溶液 PH 约为 6。过滤, 用水 100ml×2 洗涤, 压干。用乙醚 200ml×4
 5 洗涤, 弃去洗涤液, 将固体凉干, 过滤凉干得反应产物粗品 22.5g, 用浓盐酸溶解, 过滤, 加入 50%乙醇, 放置过夜。过滤得核黄素原料, 凉干重 20.5g, 回收率 82%。将混合溶剂母液于 35℃减压抽干, 得红色固体。将固体依此用乙醚、二氯甲烷 100ml×5, 甲醇 50ml×5 洗涤, 凉干压碎, 置五氧化二磷干燥器 48h, 得 2.60g 红色固体, 产率 38.9%(按回收原料计算), 为核黄素单酯
 10 粗品。

取 100-200 目粗孔硅胶 550g, 干法装柱, 将核黄素单酯粗品 10.45g, 用 $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}(95:5)$ 500ml 浸泡, 取上清液上柱, 再以同一混合溶剂 500ml 浸泡与过柱, 如此重复至全溶, 再继续用该溶剂流动相洗脱。收集流出液, 共 20 份, 每份 500ml。按流出顺序编号 (1)-(20) 号。TLC 分析表明, (1)-(2) 中
 15 含单酯及少量多酯; (3)-(16) 基本为单酯; (17)-(20) 单酯量极少, 无其它成份。将 (3)-(20) 合并, 于外温 25-30℃水压回收溶剂, 得红色固体 4.08g, 依次以 Et_2O 400ml $\text{Et}_2\text{O}:\text{CH}_2\text{Cl}_2(4:1)$ 各 400ml, 浸泡 8h, 再过滤, 置 P_2O_5 干燥器中干燥过夜, 得 3.00g 红色固体。按类似方法处理, 从 (1)-(2) 中分离单酯纯品 0.24g, 共得 3.24g, 分离产率 31.0%。

20 所得单酯纯品用 HPLC、 C_{18} 柱, 97%甲醇: 3%水为流动相, 为单一色谱峰。化合物的 mp 249-250℃, 元素分析, 计算值(%): C62.34, H7.58, N10.03; 实测值 C62.08, H7.74, N9.68。比旋度 $[\alpha]^{25} = -8.4 (\text{C}0.5, \text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH} 1:1)$ 。

UV(max, CH_3OH) 225.8 nm, 269.2nm, 361.4nm, 444.2nm. IR(cm^{-1}), 3420(br, 2 OH), 3178(OH), 1728(br, 2 C=O), 1661(C=O)。MS(m/Z) 分子离子峰与目标化合
 25 物分子量相同。 $^1\text{H-NMR}(\text{C}_5\text{D}_5\text{N})$, δ (ppm), 8.19(s, 1 H, Ar), 7.89(s, 1 H, Ar), 5.55(m, 1 H, HOCH), 5.35(m, 2H, OCH_2), 5.10(m, 1 H, HOCH), 4.90(m, 2 H, NCH_2), 4.60(br, 1 H, HOCH),

2.31(t, 2 H, COCH_2), 1.4(s, 3 H, ArCH_3), 2.15(s, 3 H, ArCH_3), 1.59(m, 2 H, CH_2CH_2), 0.83(t, 3 H, CH_3CH_2)。 $^{13}\text{C-NMR}(\text{C}_5\text{D}_5\text{N})$, δ
 30 (ppm), 173.9(C=O), 160.91(C), 159.9(C), 146.6(C),

137.6(C), 136.2(C), 135.0(C), 133.0(C), 131.7(CH), 118.1(CH),
71.5(CH), 71.3(CH),

70.9(CH); 67.6(CH₂), 49.0(CH₂), 48.99(CH₂), 32.1(CH₂), 29.8(CH₂),
29.7(CH₂),

5 29.5(CH₂), 29.4(CH₂), 25.3(CH₂), 22.9(CH₂), 20.8(CH₂), 19.8(CH₃),
14.4(CH₃)。

实施例 2: 核黄素-异丁酸酯的制备

将核黄素悬浮于-异丁酸酐中, 室温滴加过氯酸, 加毕继续搅拌反应 7 小
时, 反应液呈透明紫红色, 加乙醚沉淀, 析出结晶, 过滤, 然后用 30ml 正
10 丁醇溶解结晶, 再用水多次洗涤正丁醇, 干燥, 加入乙醚析出结晶, 过滤,
真空干燥, 过滤得粗品, 采用与实施例 1 相同的分离方法得到目的化合物。

所得化合物的 mp 165-169°C 元素分析, 计算值(%) N8.41; 实测值 N8.32。

实施例 3: 核黄素-2,6-二甲氧基苯甲酸酯的制备

取核黄素 5g, 2,6-二甲氧基苯甲酰氯 11g, 投入三角瓶中, 加热搅拌在
15 80-90°C 反应 1 小时, 冷却下加入 10ml 甲醇, 倒入 2L 水中析出黄色结晶, 过
滤, 水洗, 干燥, 得 11.4g 粗品。粗品溶于 80ml 吡啶中过滤, 滤液倒入 2L
水中析出结晶, 过滤干燥, 得 7.8 g 粗品, 采用与实施例 1 相同的分离方法
得到目的化合物。

所得化合物的 mp 162-166°C 元素分析, 计算值(%) : C61.6, H5.09, N5.42;
20 实测值 C61.41, H5.24, N6.29。

实施例 4: 核黄素-金刚烷酸酯的制备

在制备有金刚烷酸酰氯的反应瓶中, 加入核黄素 1g, 吡啶 20ml, 搅拌
下慢慢加热至回流, 核黄素逐渐全溶, 再继续回流 2 小时, 冷却过夜, 过滤,
以除去未反应的部分核黄素, 将滤液减压蒸馏除去吡啶, 残渣用甲醇溶解,
25 加活性炭回流脱色过滤, 滤液倒入水中即析出结晶, 冷却过滤, 得粗品, 将
粗品用少量甲醇溶解, 冷冻结晶析出, 过滤, 干燥, 采用与实施例 1 相同的
分离方法得到目的化合物。所得化合物的 mp 118-120°C 元素分析, 计算值
(%) : C71.4, H7.42, N5.46; 实测值 C65.52, H7.20, N5.45。

实施例 5: 以本发明化合物为活性成分的油混悬制剂的制备

配方：式(II)化合物 50 毫克 (50—150 毫克均可)

油酸乙酯 0.5 毫升 (0.1—1 毫升均可)

山茶油 0.5 毫升 (0—1 毫升均可)

将式(II)化合物用气流粉碎至 2—10 μ ，与油酸乙酯及山茶油混合，灌装 1 毫升安瓶，灭菌得到油混悬制剂。

实施例 6：长效核黄素的长效作用动物试验

采用大鼠试验，通过测定尿核黄素排出量、全血谷胱甘肽还原酶活性系数、血浆核黄素含量等指标，对长效核黄素单酯预防核黄素缺乏效果进行了为期三个月的实验评价。

一、材料与方

1、动物饲养与分组 Wistar 雄性大鼠 60 头，体重 64.5 \pm 4.6 克，单笼饲养于代谢笼。AIN-76 饲料适应一周，按体重随机分成 6 组，即正常对照组、核黄素缺乏组、核黄素组、长效核黄素单酯低、中、高剂量组，试验期间喂养不含核黄素的 AIN-76 饲料，自由饮用自来水，每天记录摄食量，每隔 6 天称取体重一次；试验开始时，采取正常对照组动物眼眶血，抗凝，测定全血谷胱甘肽还原酶活性系数(BGRAC)，离心取血浆，测定血浆核黄素含量，并收集 3 日尿，测定尿核黄素排出量；试验第 12 天、30 天、60 天、90 天，采取核黄素缺乏组、核黄素组、长效核黄素单酯低、中、高剂量组动物眼眶血并收集尿液，分别测定 BGRAC、血浆核黄素含量和尿核黄素排出量；试验结束时，处死动物，取出肝脏、肾脏，采用电镜观察形态变化。

为了配制不含核黄素的 AIN-76 饲料，除了所用的维生素复合物中不加核黄素外，所用的酪蛋白、淀粉试验前采用 1%亚硫酸氢钠进行 24 小时浸泡处理，用自来水清洗后干燥，并送样至北京营养与食品安全所分析核黄素含量，合格后用于配制饲料。试验期间共配制不含核黄素的 AIN-76 饲料饲料 80 公斤。

2、长效核黄素单酯及其注射剂量

试验所用长效核黄素单酯 (75mg/ml) 及其溶剂混合油，一次性注射于动物右后腿肌肉内，注射时按剂量需要用混合油稀释，中剂量组所用剂量按美国 NAS-NRC 推荐的大鼠核黄素需要量，90 天所需长效核黄素单酯定为 5.01mg，低、高剂量组分别减半或加倍；核黄素组动物注射核黄素油混液，

由核黄素加混合油于玛瑙研钵中研磨而成，剂量与长效核黄素单酯中剂量组相当；核黄素缺乏组动物注射等体积混合油。

二、 实验结果

1、一般情况及摄食量与体重

5 核黄素缺乏组有 2 头动物于试验 60 天时因采血麻醉死亡，长效核黄素单酯中剂量组有 1 头动物于试验第二周因腹泻死亡；核黄素缺乏组动物试验一开始摄食量就显著低于其他组，以后一直维持在 10 克 / 头 / 天左右水平，大多数动物出现脱毛现象，一些动物尚有腹泻症状；核黄素组动物摄食量于试验 25 天以后才开始明显下降，但仍一直高于核黄素缺乏组；长效核黄素单酯
10 低、中、高剂量组动物摄食量高于核黄素缺乏组和核黄素组，但是，试验 30 天以后，长效核黄素单酯低剂量组动物摄食量呈下降趋势；试验期间长效核黄素单酯中、高剂量组动物摄食量相近，试验结束时长效核黄素单酯中剂量组动物摄食量开始低于长效核黄素单酯高剂量组（图 1）。体重变化情况与摄食量变化一致，试验结束时长效核黄素单酯中剂量组动物体重增长开始低于
15 长效核黄素单酯高剂量组（图 2）。

2、尿核黄素排出量

由表 1 可知试验 15 天时核黄素缺乏组动物尿核黄素排出量显著下降，以后波动在很低的水平上；核黄素组、长效核黄素单酯低、中剂量组动物尿核黄素排出量变化类似，但是，试验 15 天后尿核黄素排出量水平高于核黄素缺
20 乏组；长效核黄素单酯高剂量组动物 15 天时尿核黄素排出量显著升高，30 天后又迅速下降，但是尿核黄素排出量水平仍高于其他组。

表 1 试验期间各组动物尿核黄素排出量变化（ μg / 头 / 天）

组别	n	时间（天）				
		0*	15	30	60	90
核黄素缺乏组	10	76.6 \pm 9.8	2.5 \pm 0.8	3.7 \pm 1.0	2.5 \pm 0.5	1.4 \pm 0.5
核黄素组	10	76.6 \pm 9.8	4.0 \pm 1.4	7.8 \pm 1.6	4.5 \pm 0.9	4.2 \pm 0.9
长效核黄素单酯低剂量组	10	76.6 \pm 9.8	5.6 \pm 1.3	4.1 \pm 0.8	5.4 \pm 1.3	5.1 \pm 0.9
长效核黄素单酯中剂量组	10	76.6 \pm 9.8	34.8 \pm 12.2	5.0 \pm 1.2	7.8 \pm 1.3	4.6 \pm 1.1
30 长效核黄素单酯高剂量组	10	76.6 \pm 9.8	217.9 \pm 60.2	9.8 \pm 3.5	9.9 \pm 2.0	5.9 \pm 1.2

* 为正常对照组起点的测定值。

3. BGRAC

核黄素缺乏组动物试验 15 天时 BGRAC 显著升高, 60 天时有反弹性下降, 原因不明; 核黄素组动物 BGRAC 试验开始以后也呈逐渐升高趋势, 幅度明显高于长效核黄素单酯低、中、高剂量组, 其中, 试验 30 天内幅度小于核黄素缺乏组; 长效核黄素单酯低、中、高剂量组动物 BGRAC 试验期间也有升高趋势, 升高幅度低剂量组>中剂量组>高剂量组 (图 3)。

4. 血浆核黄素含量

由图 4 可知: 试验期间除了长效核黄素单酯高剂量组动物血浆核黄素含量呈先升高后降低的变化外, 其余各组均呈下降趋势, 下降幅度 (尤其是试验 30 天内) 核黄素缺乏组>核黄素组>长效核黄素单酯低剂量组>中剂量组。

10 尽管我们所采用的高效液相方法可以同时检测 FAD、FMN 和核黄素, 但是, 除了正常对照组及长效核黄素单酯高剂量组少数动物血浆有 FAD 峰检测外, 大多数动物血浆样品均没有检测到 FAD 或 FMN 峰, 说明大鼠血浆中 FAD 或 FMN 含量很低。

一、 小结

15 1. 大鼠喂养核黄素缺乏饲料以后, 体内核黄素水平迅速下降, 表现为血浆核黄素

含量、尿核黄素排出量下降和 BGRAC 升高, 同时, 动物摄食量下降、生长停滞。

2. 注射核黄素油悬液也有一定预防核黄素缺乏的作用, 但是, 长效效果没有注射同等剂量的长效核黄素单酯中剂量组好。

3. 从动物生长的角度而言: 长效核黄素单酯中、高剂量组动物试验期间体重增长较好, 但是, 试验开始后不久血浆核黄素含量、尿核黄素排出量及 BGRAC 均下降, 说明正常动物饲料中核黄素含量较为充裕, 高于动物体内的需要量, 多余部分通过尿液排出, 中、高剂量的长效核黄素单酯注射进入体内后, 通过缓慢释放来达到动物对核黄素的需要, 尤其是进入试验中晚期以后几乎没有多余的核黄素通过尿液排出。

实施例 7: 长效核黄素对化疗后口腔溃疡的预防作用

采用儿童白血病住院病例 48 例, 其中男性 32 例, 女 16 例, 年龄 3-11 岁。急性淋巴白血病 35 例, 急性非淋巴白血病 13 例, 其中 M₂ 6 例, M₃ 3 例, M₄ 2 例, M₅ 2 例。采用正规的化疗方法, 如 CODPL, HDMTX, DA, 其它方案未统

计。HDMTX 采用四氢叶酸解救, 所有病例均采用水化, 碱化尿液, 均用朵尔氏液, 5%碳酸氢钠, 3%双氧水交替漱口, 部分病例治疗前使用长效核黄素 150mg, 肌注 1 次。

表 2 长效核黄素化疗后口腔溃疡的预防作用

组别		化疗 人次	溃疡 次数	发生 率(%)
ALL	未使用长效核黄素	124	32	25.8
	化疗前用长效核黄素	18	0	0
	3 月内用过长效核黄素	42	3	7.1
ANLL	未使用长效核黄素	28	8	28.6
	化疗前用长效核黄素	8	0	0
	3 月内用过长效核黄素	8	1	12.5

5 表中结果说明, 化疗前使用长效核黄素, 可有效地预防口腔溃疡的发生, 三个月内使用长效核黄素, 能降低化疗后口腔溃疡的发生率。

实施例 8: 长效核黄素预防白血病骨髓移植化疗粘膜炎

对 28 例血病骨髓移植病人, 肌注长效核黄素 150mg 以预防粘膜炎。其中仅 4 例(14.3%)发生口腔溃疡, 而未用长效核黄素的 6 例病人中有 4 例(66.7%)
10 发生严重的口腔溃疡, 其中 1 例发展为全牙周组织坏死。

实施例 10: 长效核黄素治疗顽固性口腔溃疡

张某, 男性, 35 岁。1984 年起, 发现口腔出现大小不等的溃疡数处, 经当地医院诊断为“复发性口疮”。口服核黄素及局部贴敷溃疡药膜, 但此病
15 迁延不愈, 溃疡次愈彼起。其间歇期为 4 个月左右, 劳累后为剧。1995 年后服用一定疗程的中成药, 间歇期有所延长, 但劳累后仍有复发。溃疡数目一般为 3-4 个, 部位不定。自 1999 年注射长效核黄素油混悬制剂后, 虽有时工作劳累, 睡眠不足, 但至今未复发。

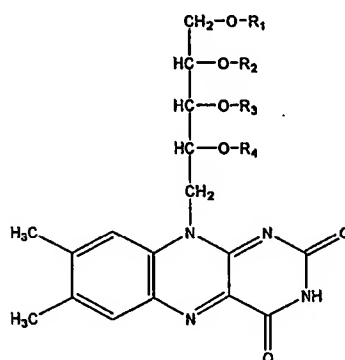
工业应用

20 本发明所提供的化合物和制剂在治疗白血病进行骨髓移植和抗肿瘤化疗、放疗所引起的各种皮炎、口腔及消化道粘膜炎、核黄素缺乏症、顽固性口腔溃疡、冠心病高血压并发症、关节炎烧伤的药物中可以得到广泛应用。

权 利 要 求 书

1、核黄素衍生物，是除核黄素四硬脂酸酯、四棕榈酸酯、三月桂酸酯、四癸酸酯、四丁酸酯、四乙酸酯、色氨酸四酯、核黄素磷酸酯外的所有核黄素或硫代核黄素侧链核糖醇羟基上的酯类衍生物。

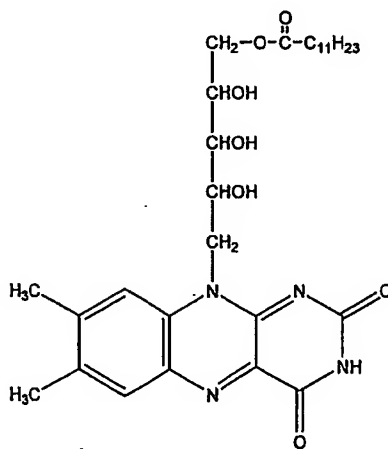
2、根据权利要求1所述的化合物，其特征在于：所述核黄素衍生物为式(I)所示的单酯、双酯、三酯或四酯化合物，其中 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 是不同、相同或独立存在的。



10

式(I)

3、根据权利要求2所述的化合物，其特征在于：所述式(I)化合物中的 R_1 为月桂酸酰基， R_2 、 R_3 、 R_4 为 H，形成的结构式为 (II) 的核黄素-5'-月桂酸单酯。



式 (II)

4、一种合成权利要求 3 所述化合物的方法，是向悬浮于极性有机溶剂中的核黄素或硫代核黄素中，滴加月桂酰氯。

5、根据权利要求 4 所述的方法，其特征在于：所述悬浮核黄素或硫代核黄素的极性有机溶剂为吡啶或二甲基甲酰胺。

5 6、一种以权利要求 3 所述化合物为活性成分的油混悬制剂，基本上由式 (II) 化合物及油酸乙酯组成。

7、根据权利要求 6 所述的油混悬制剂，其特征在于：所述油混悬制剂中还加有山茶油，其各组分的重量（体积）比为：

	式 (II) 化合物	50—150 毫克
10	油酸乙酯	0.1—1 毫升
	山茶油	0—1 毫升

8、根据权利要求 7 所述的油混悬制剂，其特征在于：所述各组分的重量（体积）份数比为：

	式 (II) 化合物	150 毫克
15	山茶油	0.5 毫升
	油酸乙酯	0.5 毫升

9、权利要求 1-3 任意一项所述化合物在制备治疗核黄素缺乏症的药物中的应用。

20 10、权利要求 1-3 任意一项所述化合物在制备治疗白血病行骨髓移植、肿瘤化疗及放疗所引起的消化道粘膜炎的药物中的应用。

11、权利要求 1-3 任意一项所述化合物在制备治疗顽固性口腔溃疡药物中的应用。

12、权利要求 1-3 任意一项所述化合物在制备辅助治疗冠心病、高血压并发症、关节炎、烧伤的药物中的应用。

25

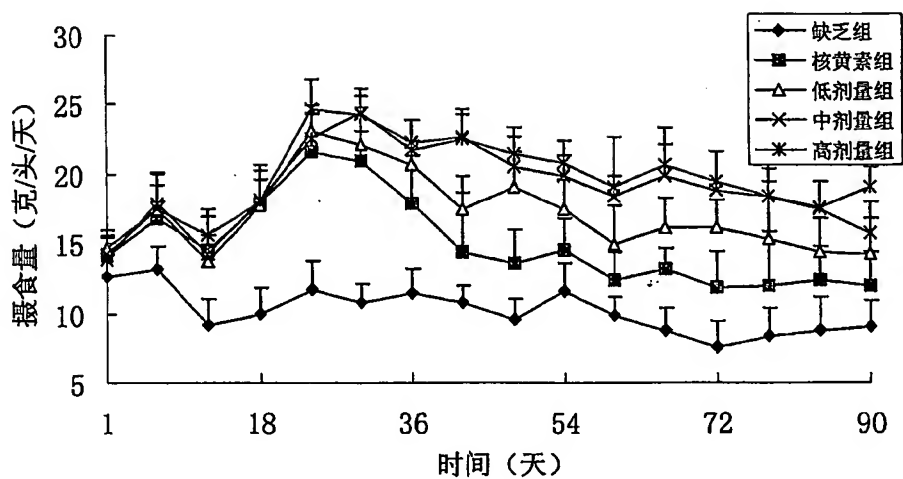


图 1

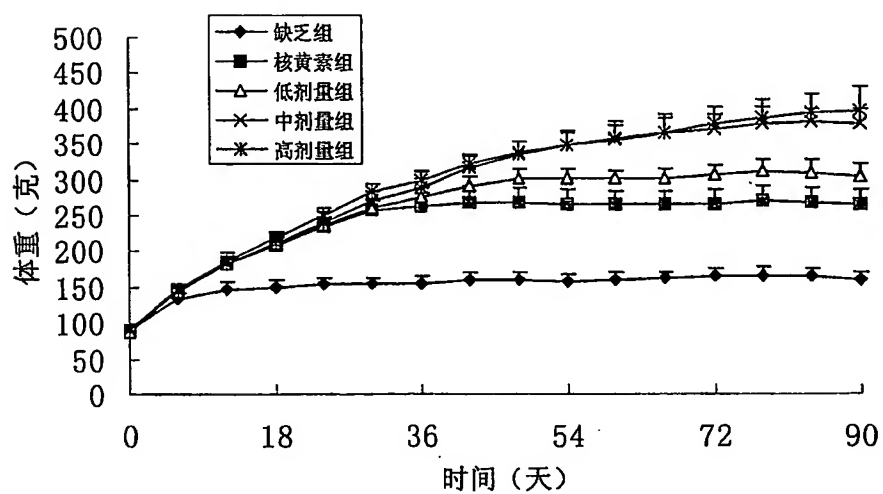


图 2

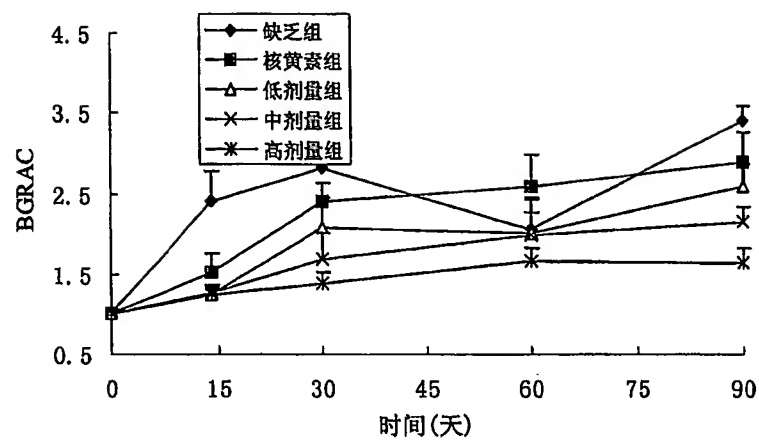


图 3

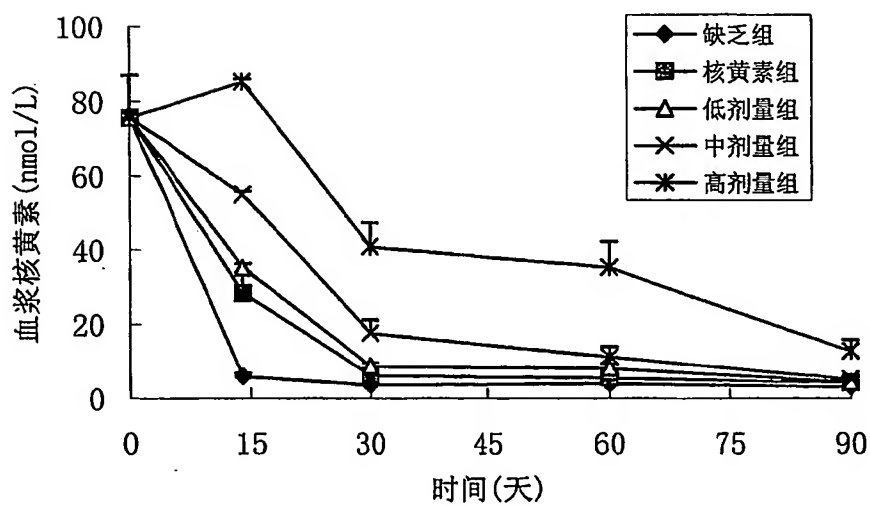


图 4